

Syrus-Alexander Karsai

Dr. med.

Untersuchungen zu aberranten Expressionsmustern von p53 und p16^{INK4a} in Kopf-Hals-Tumoren mit Hilfe der Tissue-Microarray-Technologie und der Pyrosequenzierung™

Geboren am 23. März 1978 in Baden-Baden

Examen am 1.12.2005 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. P. Plinkert

Die Tumorsuppressorproteine p53 und pRb stehen im Zentrum von regulatorischen Netzwerken in der Wachstumskontrolle von Zellen, nämlich p53/p14^{ARF}/MDM2/p21^{WAF1/CIP1} und pRb/CyclinD1/CDK4(CDK6)/p16^{INK4a}. Sowohl bei der experimentell induzierten als auch bei der natürlichen Karzinogenese werden diese beiden Regelkreise in ihrer Funktion ausgeschaltet oder zumindest verändert. Die Ausschaltung der Zellzykluskontrolle kann p53 und pRb direkt betreffen, es können aber auch andere Komponenten des jeweiligen Netzwerks verloren gehen oder aberrant überexprimiert werden. In der vorliegenden Dissertationsschrift sollten der funktionelle Zusammenhang zwischen den p53- und p16^{INK4a}-Defekten, die zugrundeliegenden Mechanismen und die biologischen/klinischen Auswirkungen erforscht und diskutiert werden.

Im Ergebnis dieser Untersuchungen ergaben sich Hinweise, dass Kopf-Hals-Tumoren mit einem p16^{INK4a}-Verlust keine biologisch und klinisch eigenständige Gruppe bilden, sondern dass der p16^{INK4a}-Verlust in Zusammenhang mit dem genetischen Status und der Expression von p53 steht (Tissue-Microarray-Analyse). Unsere Ergebnisse zeigen, dass die von Zhang und Kollegen im Jahr 1994 aufgestellte These, dass stets nur p53 oder der INK4a-Lokus von einer genetischen Veränderung betroffen sind, zumindest bei dem von uns untersuchten Kollektiv (n=733) nicht zutrifft. Wir interpretieren die Ergebnisse im Gegenteil dahin gehend, dass die gleichzeitige Inaktivierung von p53 und p16^{INK4a} zu den entscheidenden frühen Ereignissen gehört, die zur malignen Transformation beitragen. Unsere Kaplan-Meier-Analysen bestätigen zudem, dass sowohl p53- als auch p16^{INK4a}-Alterationen eine begrenzte prognostische Bedeutung bzgl. der Tumorprogression von Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen besitzen. Dies wiederum unterstreicht ihre

Rolle in der frühen Phase der Karzinogenese.

Wie es zu dem gleichzeitigen Ausfall von p53 und p16^{INK4a} kommen kann, ist noch nicht vollständig geklärt. Zur Bedeutung der Hypermethylierung der verschiedenen Promoterregionen mit CpG-Inseln im INK4a-Lokus existieren kontroverse Veröffentlichungen, es häufen sich jedoch Untersuchungen, welche die Promoter-Hypermethylierung als einen wichtigen Mechanismus des p16^{INK4a}-Verlustes identifizieren. Vor diesem Hintergrund fanden wir als eine mögliche Verknüpfung zwischen dem p53-Status und dem p16^{INK4a}-Verlust erhöhte DNA-Methyltransferase(Dnmt1)-Proteinlevel, vorzugsweise in Tumoren mit aberranter p53-Expression und p16^{INK4a}-Verlust. Unsere Ergebnisse zeigen allerdings auch, dass die epigenetische Inaktivierung des INK4a-Lokus (hier: p16^{INK4a}) bei Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen wahrscheinlich nicht ausschließlich durch DNA-Hypermethylierung erfolgt. Mit Hilfe der quantitativen Methylierungsanalyse (PyrosequenzierungTM) konnten wir lediglich in 3/36 (8,3%) der untersuchten Proben eine Hypermethylierung nachweisen.

Wie diese Ergebnisse nahe legen, sind die Mechanismen, die zu einem p16^{INK4a}-Verlust führen, anscheinend noch nicht abschließend geklärt. Von besonderem Interesse wird deshalb sein, die funktionelle Beziehung zwischen den beiden Defekten in Transfektionsexperimenten herauszuarbeiten. Wenn p53-Mutationen kausal mit dem Expressionsverlust von p16^{INK4a} zusammenhängen, sollte das Einschleusen von Wildtyp-TP53 zu einer Reaktivierung des endogenen p16^{INK4a} führen, zumindest jedoch in den Fällen, in denen eine Hypermethylierung vorliegt. Alternative Mechanismen auf der Ebene von Protein-Protein-Interaktionen (z.B. Histonen-Modifikationen) werden zukünftig untersucht und diskutiert werden müssen.